



**EUROCHEM**  
RICERCHE

Viale del Lavoro, 6 - 35035 Mestrino (PD) | Tel. +39 049 9002844 | [info@eurochemricerche.it](mailto:info@eurochemricerche.it) | [www.eurochemricerche.it](http://www.eurochemricerche.it)

**BIODEGRADABILITÀ IMMEDIATA/  
*IMMEDIATE BIODEGRADABILITY***

BLUGENIA Srl Società Benefit

**WAVE IL DETERSIVO IN FOGLI**

## Indice / Index

1.	PROFILO INFORMATIVO.....	3
2.	SCOPO / AIM.....	4
3.	SOSTANZA DI PROVA / TEST SUBSTANCE.....	4
4.	METODO DI PROVA / TEST METHOD .....	5
4.1	Principio del metodo / Method principle .....	5
4.2	Materiale / Material.....	6
4.3	Strumenti / Instruments .....	6
4.4	Reagenti / Reagents .....	6
4.5	Preparazione del medium di reazione / Preparation of the reaction medium .....	7
4.6	Inoculo microbico / Microbial inoculum .....	8
4.7	Preparazione delle bottiglie / Bottles preparation.....	8
5.	DATI E CALCOLI/ DATA AND CALCULATIONS.....	9
5.1	Misurazioni / Measurements .....	9
5.2	Sostanze in prova / Substances under test .....	11
5.3	Materiale di riferimento / Reference material.....	12
6.	RISULTATI / RESULTS.....	12
6.1	Criteri di validità della prova / Criteria for the validity of the test	16
7.	CONCLUSIONI / CONCLUSIONS .....	17
8.	BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHY .....	18

# 1. PROFILO INFORMATIVO

<b>Committente / Customer:</b>	<b>BLUGENIA Srl Società Benefit VIA BERCHET, 11 35131 PADOVA PD ITALIA</b>
<b>Campione / Sample:</b>	<b>WAVE IL DETERSIVO IN FOGLI cod. 2021M04</b>
<b>Lotto / Batch:</b>	07/21 83-0014877 V01 6
<b>Riferimento interno / Internal reference:</b>	ACC34089
<b>Data accettazione / Acceptance date:</b>	14/09/2023
<b>Prelevatore / Sampler:</b>	Cliente / Customer
<b>Origine / Origin:</b>	Cliente / Customer
<b>Campionamento / Sampling form:</b>	Prodotto finito / Finish product
<b>Responsabile studio/ Study Manager:</b>	FP
<b>Responsabile laboratorio / Laboratory Manager:</b>	Roberto Zambonin
<b>Periodo analisi / Analysis period:</b>	14/09/2023 – 17/11/2023

## 2. SCOPO / AIM

Lo scopo di questo studio è ottenere informazioni sulla biodegradabilità immediata (rapida) in acqua della sostanza in esame.

*The aim of this study is to obtain information on the immediate (rapid) biodegradability in water of the test substance.*

## 3. SOSTANZA DI PROVA / TEST SUBSTANCE

Il Committente ha inviato al laboratorio di prova un campione denominato WAVE DETERGIVO IN FOGLI 34089. Si tratta di un detersivo per bucato in lavatrice, innovativo e a basso impatto ambientale. Per maggiori dettagli si veda la confezione riportata in Fig. 1.

*The Client sent a sample called WAVE DETERGENT SHEETS 34089 to the test laboratory. It is an innovative laundry detergent with a low environmental impact. For more details, see the packaging shown in Fig. 1.*



## 4. METODO DI PROVA / TEST METHOD

Il metodo utilizzato durante il test è l'OECD/OECD 301:1992 "Ready biodegradability" (Test F, Manometric Respirometry Test).

*The method used during the test is the OECD/OECD 301:1992 "Ready biodegradability" (Test F, Manometric Respirometry Test).*

### 4.1 Principio del metodo / Method principle

Un volume misurato di terreno minerale inoculato, contenente una concentrazione nota della sostanza in esame (ad es. 100 mg/L di sostanza che forniscano almeno 50-100 mg di ThOD/L) come unica fonte nominale di carbonio organico, viene agitato in un'un'apposita bottiglia chiusa a una temperatura costante ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) fino a 28 giorni. L'agitazione continua crea una sospensione del campione solitamente accettabile per campioni insolubili in acqua (§ 4, OECD 301:1992).

Il consumo di ossigeno viene determinato misurando la diminuzione della pressione parziale dovuta al consumo di  $\text{O}_2$ , con un sensore alloggiato nel tappo della bottiglia. L'anidride carbonica sviluppata non aumenta la pressione nello spazio di testa del recipiente, poiché viene assorbita da una trappola a idrossido di sodio. La quantità di ossigeno consumata dalla popolazione microbica durante la biodegradazione (BOD, domanda biologica di ossigeno) della sostanza in esame (corretta per l'assorbimento del bianco con inoculo, eseguito in parallelo) è espressa come percentuale della ThOD (domanda teorica di ossigeno), calcolata stechiometricamente o, del COD (domanda chimica di ossigeno), misurato in laboratorio. Laddove possibile, il ThOD dovrebbe essere preferito al COD (§§ 2 e 22, OECD 301:1992). PASS LEVEL: per definire una sostanza prontamente biodegradabile, il pass level per la biodegradabilità è del 60% con riferimento al ThOD o al COD.

*A measured volume of inoculated mineral medium, containing a known concentration of the test substance (e.g. 100 mg/L of substance providing at least 50-100 mg ThOD/L) as the only nominal source of organic carbon, is stirred in a special closed bottle at a constant temperature ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) for up to 28 days. Continuous agitation creates a sample suspension that is usually acceptable for water-insoluble samples (§ 4, OECD 301:1992). Oxygen consumption is determined by measuring the decrease in partial pressure due to  $\text{O}_2$  consumption, with a sensor housed in the bottle cap. The carbon dioxide developed does not increase the pressure in the headspace of the vessel, as it is absorbed by a sodium hydroxide trap. The amount of oxygen consumed by the microbial population during biodegradation (BOD, biological oxygen demand) of the test substance (corrected for white absorption with inoculum, performed in parallel) is expressed as a percentage of the stoichiometrically calculated ThOD (theoretical oxygen demand) or the COD (chemical oxygen demand), measured in the laboratory. Wherever possible, ThOD should be preferred to COD (§§ 2 and 22, OECD 301:1992). PASS LEVEL: to define a readily biodegradable substance, the pass level for biodegradability is 60% with reference to ThOD or COD.*

## 4.2 Materiale / Material

Il materiale (o sostanza) di riferimento (RM) da utilizzare per verificare l'attività microbica dell'inoculo microbico (controllo positivo) è il benzoato di sodio. La degradazione di almeno il 60% del suo ThOD deve avvenire entro 14 giorni (§ 24, OECD 301:1992).

*The reference material (or substance) to be used to test the microbial activity of the microbial inoculum (positive control) is sodium benzoate. The degradation of at least 60% of its ThOD must occur within 14 days (§ 24, OECD 301:1992).*

## 4.3 Strumenti / Instruments

Oltre alla normale attrezzatura di laboratorio, sono stati utilizzati:

- Manometro/respirometro: BOD Sensor System 6 di VELP Scientific, un sistema manometrico con bottiglie in vetro scuro da 500 mL, trappola per CO<sub>2</sub>, base di agitazione e teste di misura della pressione, in grado di eseguire una o più misure di BOD (in mg/L) al giorno per 28 giorni e misurare fino a 999 mg/L di O<sub>2</sub>.
- Diversi contenitori graduati da 2, 3 e 4 litri per la preparazione del medium di reazione.
- Incubatore regolato a 20±1 °C al buio.

*In addition to normal laboratory equipment, the following were used:*

- *Pressure gauge/respirometer: VELP Scientific's BOD Sensor System 6, a manometric system with 500 mL dark glass bottles, CO<sub>2</sub> trap, stirring base and pressure measuring heads, capable of performing one or more BOD measurements (in mg/L) per day for 28 days and measuring up to 999 mg/L of O<sub>2</sub>.*
- *Different graduated containers of 2, 3 and 4 litres for the preparation of the reaction medium.*
- *Incubator set to 20±1 °C in the dark*

## 4.4 Reagenti / Reagents

- acqua distillata (pura)
- soluzioni di micronutrienti
- inoculo microbico
- benzoato di sodio: utilizzato come materiale di riferimento per verificare l'attività microbica dell'inoculo (controllo positivo)
  
- *distilled water (pure)*
- *Micronutrient solutions*
- *Microbial inoculum*
- *Sodium benzoate: used as a reference material to check the microbial activity of the inoculum (positive control)*

## 4.5 Preparazione del medium di reazione / *Preparation of the reaction medium*

Le seguenti soluzioni madre di micronutrienti vengono preparate utilizzando reagenti di grado analitico, disciogliendoli con acqua distillata e portando il volume finale a un litro.

Soluzione 1:

- Potassio diidrogeno ortofosfato,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  8,50 g
- Dipotassio idrogeno ortofosfato,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  21,75 g
- Disodio idrogeno ortofosfato disidratato,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \bullet 2\text{H}_2\text{O}$  33,30 g
- Cloruro di ammonio,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0,50 g

Soluzione 2:

- Cloruro di calcio,  $\text{CaCl}_2$  27,50 g

Soluzione 3:

- Magnesio solfato eptaidrato,  $\text{MgSO}_4 \bullet 7\text{H}_2\text{O}$  22,50 g

Soluzione 4:

- Ferro (III) cloruro esaidrato,  $\text{FeCl}_3 \bullet 6\text{H}_2\text{O}$  0,25 g

Per preparare il terreno si aggiungono 10 mL di soluzione 1 e 1 mL delle soluzioni 2, 3 e 4 per litro di acqua distillata. Il medium viene saturato con ossigeno alla temperatura di prova, aerando con aria compressa pulita per circa 20 minuti. La concentrazione di ossigeno disciolto viene determinata a scopo di controllo.

*The following micronutrient stock solutions are prepared using analytical-grade reagents, dissolving them with distilled water, and bringing the final volume to one liter.*

*Solution 1:*

- *Potassium dihydrogen orthophosphate,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  8.50 g*
- *Dipotassium hydrogen orthophosphate,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  21.75 g*
- *Dehydrated disodium hydrogen orthophosphate,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \bullet 2\text{H}_2\text{O}$  33.30 g*
- *Ammonium chloride,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.50 g*

*Solution 2:*

- *Calcium chloride,  $\text{CaCl}_2$  27.50 g*

Studio / Study N° **RAP35859**

7/19

I risultati ottenuti si riferiscono esclusivamente al campione sottoposto a prova  
Il presente studio non può essere riprodotto parzialmente senza approvazione scritta del laboratorio /  
*Results reported in this study refer exclusively to the tested sample*  
*The present study cannot be reproduced partially without written approval of the laboratory*

*Solution 3:*

- *Magnesium sulphate heptahydrate, MgSO<sub>4</sub> • 7H<sub>2</sub>O 22.50 g*

*Solution 4:*

- *Iron(III) chloride hexahydrate, FeCl<sub>3</sub> • 6H<sub>2</sub>O 0.25 g*

*To prepare the soil, 10 mL of solution 1 and 1 mL of solutions 2, 3 and 4 per liter of distilled water are added. The medium is saturated with oxygen at the test temperature, aerating with clean compressed air for about 20 minutes. The concentration of dissolved oxygen is determined for control purposes.*

#### 4.6 Inoculo microbico / *Microbial inoculum*

L'inoculo microbico utilizzato è rappresentato da fango attivo dell'impianto di depurazione biologica delle acque reflue urbane di Conselve (Padova, Italia). Il fango è stato ossigenato per 5 giorni alla temperatura di prova. Sulla base della carica batterica presente e dei solidi sospesi sono stati utilizzati 1,7 mL di inoculo in 250 mL di medium di reazione finale, per avere circa 107-108 UFC/L e < 30 mg/L di solidi sospesi, come richiesto dal metodo.

*The microbial inoculum used is activated sludge from the biological urban wastewater treatment plant in Conselve (Padua, Italy). The sludge was oxygenated for 5 days at the test temperature. On the basis of the bacterial load present and the suspended solids, 1.7 mL of inoculum in 250 mL of final reaction medium were used, to obtain about 107-108 CFU/L and < 30 mg/L of suspended solids, as required by the method.*

#### 4.7 Preparazione delle bottiglie / *Bottles preparation*

Tutte le manipolazioni necessarie, compreso il pretrattamento dell'inoculo, vengono eseguite alla temperatura di prova scelta di 20 °C ca., garantendo la pulizia, ma non la sterilità di tutta la vetreria. Le misurazioni del consumo di O<sub>2</sub> (cioè BOD in mg/L) vengono eseguite automaticamente due volte al giorno per 28 giorni dal respirometro. Sono state allestite le seguenti bottiglie (volume totale del medium di reazione = 250 mL/bottiglia):

- 2 contenenti medium e inoculo (bianco; controllo negativo)
- 2 contenenti materiale di riferimento, inoculo e medium (controllo positivo)
- 2 contenenti sostanza di prova, inoculo e medium (test)

Dopo aver avviato la prova, le bottiglie vengono incubate sul loro supporto di agitazione alla temperatura 20±1 °C, al buio. Le misurazioni vengono poi periodicamente recuperate dai sensori di pressione presenti nei tappi da un ricevitore wireless collegato a un computer.

All necessary handlings, including inoculum pre-treatment, are carried out at the chosen test temperature of approx. 20 °C, ensuring cleanliness, but not sterility of all glassware.

Measurements of O<sub>2</sub> consumption (i.e., BOD in mg/L) are performed automatically twice daily for 28 days by the respirometer. The following bottles were prepared (total volume of reaction medium = 250 mL/bottle):

- 2 containing medium and inoculum (white; negative control)
- 2 containing reference material, inoculum and medium (positive control)
- 2 containing test substance, inoculum and medium (test)

After starting the test, the bottles are incubated on their stirring medium at a temperature of 20±1 °C, in the dark. The measurements are then periodically retrieved from the pressure sensors in the plugs from a wireless receiver connected to a computer.

## 5. DATI E CALCOLI/ DATA AND CALCULATIONS

### 5.1 Misurazioni / Measurements

Il consumo di ossigeno viene calcolato dal respirometro a partire dalla diminuzione della pressione parziale dell'ossigeno e riportato come BOD in mg/L. L'assorbimento netto di O<sub>2</sub> è dato dalla differenza tra bianco e campione. La deplezione netta di ossigeno (BOD) viene divisa per la concentrazione (p/v) del campione per esprimere il BOD come mg BOD/mg sostanza.

La degradazione è definita come il rapporto tra il BOD (equazione a) e il COD (o meglio ThOD, se calcolabile) ed espressa in percentuale (equazione b):

*Oxygen consumption is calculated by the respirometer from the decrease in the partial pressure of oxygen and reported as BOD in mg/L. The net absorption of O<sub>2</sub> is given by the difference between the blank and the sample. Net oxygen depletion (BOD) is divided by the concentration (w/v) of the sample to express the BOD as mg BOD/mg substance. Degradation is defined as the ratio of BOD (equation a) to COD (or rather ThOD, if calculable) and expressed as a percentage (equation b):*

a)

$$BOD = \frac{\text{mg O}_2 \text{ respirati dalla sostanza testata} - \text{mg O}_2 \text{ respirati dal bianco}}{\text{mg sostanza testata nel contenitore di reazione}}$$

b)

$$\% \text{ biodegradazione} = \%D = \frac{BOD \text{ (mg O}_2 \text{/mg sostanza testata)}}{COD \text{ (mg O}_2 \text{/mg sostanza testata)}} \times 100$$

Quando possibile, l'uso del ThOD è da preferire al COD, in quanto alcune sostanze potrebbero non essere completamente ossidate dal permanganato di potassio utilizzato per la determinazione del COD (§§ 2 e 22, OECD 301:1992). Tuttavia, la sostanza in esame è una miscela e non ha una formula chimica ben definita. Quindi, il ThOD non è calcolabile e, in questo caso, si deve usare il COD.

Il metodo utilizzato per la misurazione del COD è l'ISO 15705:2002 (E) "Water quality — Determination of the chemical oxygen demand index (ST-COD) — Small-scale sealed-tube method". Essendo approvato da metodo, viene utilizzato un kit commerciale: Kit LCI 400 Dr Lange (0 - 1000 mg/L). Il test è applicabile a qualsiasi campione acquoso, incluse le acque reflue e di scarico. I campioni vengono ossidati in modo standard mediante digestione con acido solforico e bicromato di potassio in presenza di solfato di argento e solfato di mercurio (II). L'argento funge da catalizzatore per ossidare la materia organica più refrattaria. Il mercurio riduce l'interferenza causata dalla presenza di ioni cloruro. La quantità di bicromato utilizzato nell'ossidazione del campione viene determinata misurando l'assorbanza del Cr (III) formato ad una lunghezza d'onda di 600±20 nm. Le misurazioni dell'assorbanza vengono effettuate nel tubo di digestione, che funge da cuvetta e convertito in un valore di COD utilizzando l'equazione della retta di taratura.

L'eventuale formazione di nitriti e nitrati (NO<sub>x</sub>) è stata verificata con un kit commerciale (Dr. Lange). Per il materiale di riferimento (RM), sodio benzoato (C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>NaO<sub>2</sub>, peso molecolare MW = 144,11 g/mol), è invece stato calcolato il ThOD, secondo quanto riportato nel metodo OECD 301:1992 (Annex IV, § 2):

*Whenever possible, the use of ThOD is preferable to COD, as some substances may not be completely oxidized by the potassium permanganate used for the determination of COD (§§ 2 and 22, OECD 301:1992). However, the test substance is a mixture and does not have a well-defined chemical formula. Therefore, the ThOD is not calculable and, in this case, the COD must be used.*

*The method used for COD measurement is ISO 15705:2002 (E) "Water quality — Determination of the chemical oxygen demand index (ST-COD) — Small-scale sealed-tube method". Being method-approved, a commercial kit is used: Dr Lange LCI 400 Kit (0 - 1000 mg/L). The test is applicable to any aqueous sample, including wastewater and wastewater. Samples are oxidized in a standard manner by digestion with sulfuric acid and potassium dichromate in the presence of silver sulfate and mercury(II) sulfate. Silver acts as a catalyst to oxidize the most refractory organic matter. Mercury reduces interference caused by the presence of chloride ions. The amount of dichromate used in the oxidation of the sample is determined by measuring the absorbance of the Cr (III) formed at a wavelength of 600±20 nm. Absorbance measurements are made in the digestion tube, which acts as a cuvette and converted to a COD value using the calibration line equation.*

*The possible formation of nitrites and nitrates (NO<sub>x</sub>) was verified with a commercial kit (Dr. Lange). For the reference material (RM), sodium benzoate (C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>NaO<sub>2</sub>, molecular weight MW = 144.11 g/mol), ThOD was calculated according to OECD method 301:1992 (Annex IV, § 2):*

$$ThOD_{NH3} = \frac{16[2c + 1/2(h - cl - 3n) + 3s + 5/2p + 1/2na - o]mg/mg}{MW}$$

Dove c, h, cl ecc. indica il numero di atomi dei corrispondenti elementi nella molecola C, H, Cl e MW è il peso molecolare. La sigla ThODNH3 significa che la molecola non contiene azoto che possa ossidarsi per formare NOx.

*Where c, h, cl etc. indicates the number of atoms of the corresponding elements in the molecule C, H, CL and MW is the molecular weight. The acronym ThODNH3 means that the molecule does not contain nitrogen that can oxidize to form NOx.*

## 5.2 Sostanze in prova / Substances under test

<b>COD e PESI (sostanza di prova)</b>		
ThOD/COD	1,437	mg O2/mg sostanza
ThOD/COD reale nel mezzo di reazione	86,482	mgO2/L
Peso teorico per avere un ThOD = 75 mgO2/L	13,1	mg/250 mL
<b>Pesate reali</b>	<b>mg/250 mL</b>	<b>mg/L</b>
Pesata replica 1	16,7	66,8
Pesata replica 2	13,4	53,6
Solubilità in acqua		solubile
Formazione di NOX		non rilevata

### 5.3 Materiale di riferimento / Reference material

COD e PESI (sostanza di prova)		
ThOD/COD	1,670	mg O <sub>2</sub> /mg sostanza
ThOD/COD reale nel mezzo di reazione	81,830	mgO <sub>2</sub> /L
Peso teorico per avere un ThOD = 75 mgO <sub>2</sub> /L	11,2	mg/125 mL
<b>Pesate reali</b>	<b>mg/250 mL</b>	<b>mg/L</b>
Pesata replica 1	12,2	48,8
Pesata replica 2	12,3	49,2
Solubilità in acqua		solubile
Formazione di NOX		non rilevata

## 6. RISULTATI / RESULTS

Di seguito sono riportati il consumo di O<sub>2</sub> misurato dal respirometro, il BOD netto rispetto al bianco e la percentuale di biodegradazione calcolata (%D) del campione e del materiale di riferimento (MR). Per valutare la variabilità dei dati, l'assorbimento medio di O<sub>2</sub> del bianco è stato sottratto da quello delle singole repliche del campione e del MR, quindi, è stata calcolata la media delle percentuali di degradazione (%D).

*Below are the O<sub>2</sub> consumption as measured by the respirometer, the net BOD versus white, and the calculated biodegradation percentage (%D) of the sample and reference material (MR). To assess the variability of the data, the mean O<sub>2</sub> absorption of the blank was subtracted from that of the individual replicates of the sample and the MR, and then the average of the degradation percentages (%D) was calculated.*

Tab. 1 – Campione: misura del consumo di ossigeno (BOD in mg/L) e calcolo della percentuale di biodegradazione (%D) / *Sample: measurement of oxygen consumption (BOD in mg/L) and calculation of the percentage of biodegradation (%D)*

Data inizio	Campione ID 202317801								
03/10/'23	Consumo di ossigeno (BOD; mg/L)				BOD netto e percentuale di biodegradabilità (%D)				
Giorno	Bianco-1	Bianco-2	MR-1	MR-2	BOD-1	BOD-2	%D-1	%D-2	%D-medio
0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0
1	31	30	43	48	0,21	0,29	14,5	20,2	17,3
2	33	33	48	57	0,25	0,40	17,3	27,8	22,5
3	34	33	56	68	0,37	0,57	26,0	39,9	33,0
4	34	32	76	72	0,71	0,65	49,7	45,1	47,4
5	33	32	79	81	0,77	0,81	53,8	56,1	54,9
6	32	32	82	86	0,83	0,90	57,8	62,4	60,1
7	33	32	82	92	0,82	0,99	57,2	68,8	63,0
8	32	31	90	95	0,97	1,05	67,6	73,4	70,5
9	32	32	92	89	1,00	0,95	69,4	65,9	67,6
10	33	32	100	93	1,12	1,00	78,1	70,0	74,0
11	32	31	101	92	1,15	1,00	80,4	70,0	75,2
12	32	30	98	98	1,11	1,11	77,5	77,5	77,5
13	32	31	101	97	1,15	1,09	80,4	75,7	78,1
14	33	30	100	101	1,14	1,15	79,2	80,4	79,8
15	32	29	103	106	1,20	1,25	83,8	87,3	85,6
16	33	30	101	101	1,15	1,15	80,4	80,4	80,4
17	33	30	101	111	1,15	1,32	80,4	91,9	86,1
18	33	32	101	103	1,14	1,17	79,2	81,5	80,4
19	33	32	101	109	1,14	1,27	79,2	88,5	83,8
20	33	31	103	106	1,18	1,23	82,1	85,6	83,8
21	32	31	101	104	1,15	1,20	80,4	83,8	82,1
22	32	31	104	106	1,20	1,24	83,8	86,1	85,0
23	32	30	101	101	1,16	1,16	80,9	80,9	80,9
24	33	30	101	111	1,15	1,32	80,4	91,9	86,1
25	31	30	101	103	1,17	1,20	81,5	83,8	82,7
26	31	30	101	109	1,17	1,30	81,5	90,8	86,1
27	31	31	103	111	1,20	1,33	83,3	92,5	87,9
28	31	31	101	103	1,16	1,20	80,9	83,3	82,1
							<b>Max</b>		<b>87,9</b>

Tab. 2 – MR: misura del consumo di ossigeno (BOD in mg/L) e calcolo della percentuale di biodegradazione (%D) / MR: measurement of oxygen consumption (BOD in mg/L) and calculation of biodegradation percentage (%D)

Data inizio	Materiale di Riferimento (RM) - Sodio Benzoato								
03/10/'23	Consumo di ossigeno (BOD; mg/L)				BOD netto e percentuale di biodegradabilità (%D)				
Giorno	Bianco-1	Bianco-2	MR-1	MR-2	BOD-1	BOD-2	%D-1	%D-2	%D-medio
0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0
1	31	30	51	56	0,42	0,52	25,1	31,2	28,1
2	33	33	82	87	1,00	1,10	59,9	66,0	62,9
3	34	33	91	94	1,17	1,23	70,3	73,9	72,1
4	34	32	95	98	1,27	1,33	75,8	79,4	77,6
5	33	32	99	100	1,36	1,38	81,3	82,5	81,9
6	32	32	104	103	1,47	1,45	88,0	86,8	87,4
7	33	32	104	101	1,46	1,40	87,4	83,7	85,5
8	32	31	105	101	1,50	1,42	89,8	84,9	87,4
9	32	32	105	100	1,49	1,39	89,2	83,1	86,2
10	33	32	109	100	1,56	1,38	93,5	82,5	88,0
11	32	31	109	98	1,58	1,36	94,7	81,3	88,0
12	32	30	113	101	1,67	1,43	100,2	85,5	92,9
13	32	31	112	98	1,64	1,36	98,4	81,3	89,8
14	33	30	112	97	1,64	1,34	98,4	80,0	89,2
15	32	29	111	103	1,64	1,48	98,4	88,6	93,5
16	33	30	111	102	1,62	1,44	97,2	86,2	91,7
17	33	30	116	105	1,72	1,50	103,3	89,8	96,5
18	33	32	113	102	1,64	1,42	98,4	84,9	91,7
19	33	32	116	103	1,70	1,44	102,0	86,2	94,1
20	33	31	116	100	1,71	1,39	102,7	83,1	92,9
21	32	31	115	99	1,70	1,38	102,0	82,5	92,3
22	32	31	111	103	1,62	1,46	97,2	87,4	92,3
23	32	30	111	102	1,63	1,45	97,8	86,8	92,3
24	33	30	116	105	1,72	1,50	103,3	89,8	96,5
25	31	30	113	102	1,68	1,46	100,8	87,4	94,1
26	31	30	116	103	1,74	1,48	104,5	88,6	96,5
27	31	31	116	105	1,73	1,51	103,9	90,4	97,2
28	31	31	113	102	1,67	1,45	100,2	86,8	93,5
								<b>Max</b>	<b>97,2</b>

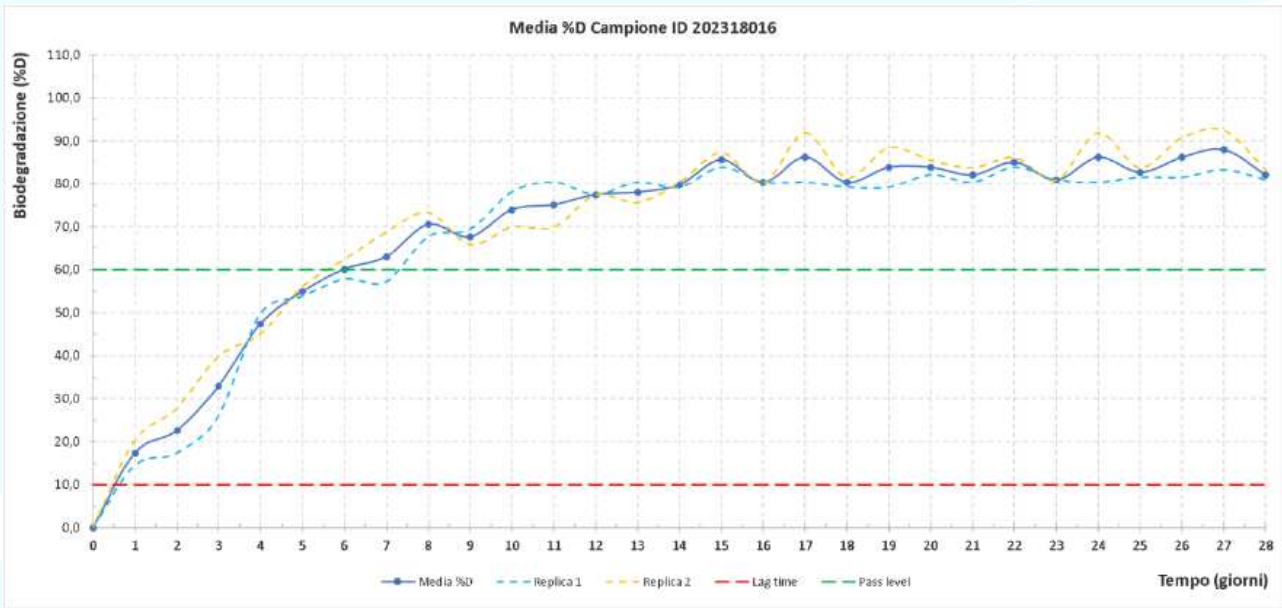


Fig. 2 – Campione: andamento della biodegradazione. Sono riportati il valore medio di biodegradabilità e quello delle due repliche singole, il lag time e il pass level (%D = 60%) / *Sample: biodegradation trend. The average value of biodegradability and that of the two single replicas, the lag time and the pass level (%D = 60%)*

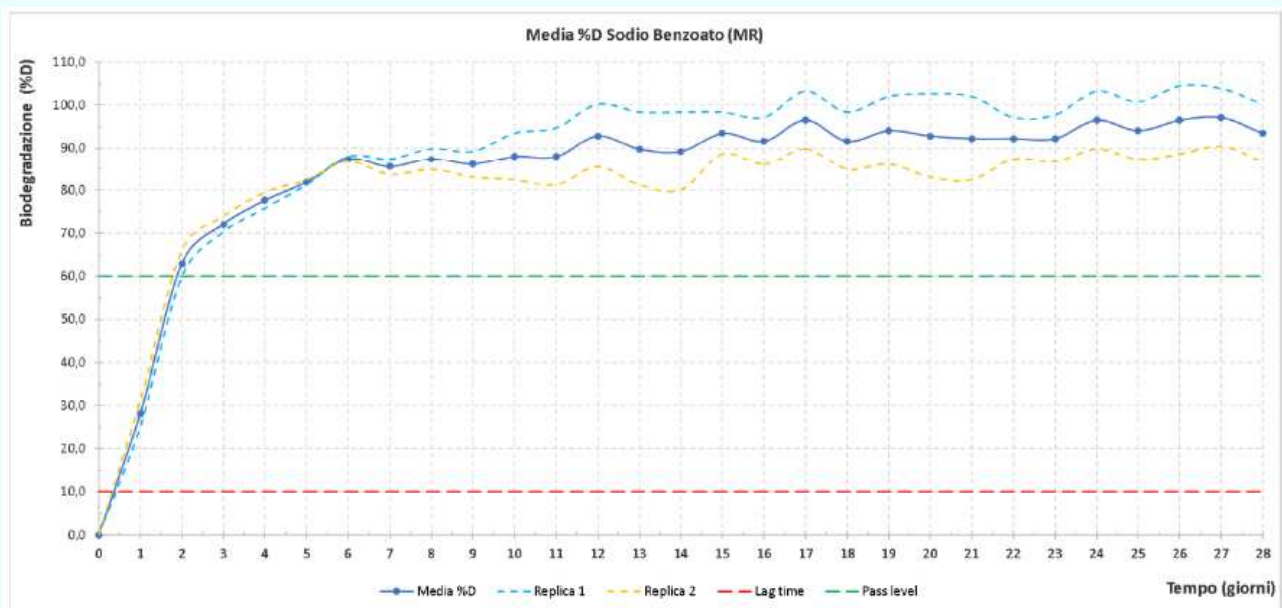


Fig. 3 – Materiale di riferimento: andamento della biodegradazione. Sono riportati il valore medio di biodegradabilità e quello delle due repliche singole, il lag time (%D = 10%) e il pass level (%D = 60%) / *Reference material: biodegradation trends. The average value of biodegradability and that of the two single replicas, the lag time (%D = 10%) and the pass level (%D = 60%) are reported*

## 6.1 Criteri di validità della prova / *Criteria for the validity of the test*

I criteri di validità (§ 24 della parte generale e § 22 del Test F, OECD 301:1992) sono soddisfatti:

- la degradazione del materiale di riferimento (RM) raggiunge il pass level del 60% entro 14 giorni;
- l'assorbimento di ossigeno del bianco dell'inoculo non ha superato i 60 mg/L durante il test;
- La differenza dei valori estremi di BOD nelle repliche al plateau è inferiore al 20%.

*The validity criteria (§ 24 of the General Part and § 22 of the F Test, OECD 301:1992) are met:*

- *Reference material degradation (RM) reaches 60% pass level within 14 days;*
- *the oxygen uptake of the inoculum white did not exceed 60 mg/L during the test;*
- *The difference in extreme BOD values in plateau replicates is less than 20%.*

## 7. CONCLUSIONI / CONCLUSIONS

Il “REGOLAMENTO (CE) N. 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 16 dicembre 2008 relativo alla classificazione, all’etichettatura e all’imballaggio delle sostanze e delle miscele che modifica e abroga le direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE e che reca modifica al regolamento (CE) n. 1907/2006” riporta i seguenti criteri di valutazione per la rapida biodegradabilità delle sostanze organiche (§ 4.1.2.9.5):

*“Le sostanze sono considerate rapidamente degradabili se si verifica almeno una delle seguenti condizioni:*

*a) negli studi di pronta biodegradazione a 28 giorni sono raggiunti almeno i seguenti livelli di degradazione:*

*i) nelle prove basate sul carbonio organico disciolto: 70 %;*

*ii) nelle prove basate sulla deplezione dell’ossigeno o sulla formazione di diossido di carbonio: 60 % del massimo teorico.*

*Questi livelli di biodegradazione devono essere raggiunti entro 10 giorni dall’inizio della degradazione, considerato come il momento in cui il 10 % della sostanza è stato degradato, a meno che la sostanza venga identificata come UVCB o come sostanza complessa, multicomponente con costituenti strutturalmente simili. In tal caso e se vi sono sufficienti motivazioni, si può derogare alla condizione relativa alla finestra di 10 giorni e applicare la soglia di 28 giorni. ...”*

Sulla base dei risultati del presente studio, la percentuale di degradazione media massima della sostanza in esame è **%D = 87,9%** al plateau, dopo 28 giorni. Pertanto, il campione testato può essere considerato come:

**rapidamente biodegradabile**

"REGULATION (EC) NO 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC and amending Regulation (EC) No 1907/2006" sets out the following assessment criteria for the rapid biodegradability of organic substances (§ 4.1.2.9.5):

"Substances shall be considered rapidly degradable if at least one of the following conditions is met:

(a) in the 28-day ready biodegradation studies, at least the following levels of degradation shall be achieved:

(i) in dissolved organic carbon tests: 70 %;

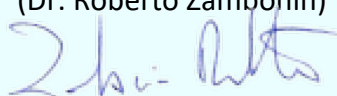
(ii) in tests based on oxygen depletion or carbon dioxide formation: 60 % of the theoretical maximum.

These biodegradation levels shall be reached within 10 days of the start of degradation, which shall be considered as the time at which 10 % of the substance has been degraded, unless the substance is identified as UVCB or as a complex, multiconstituent substance with structurally similar constituents. In this case, and if there are sufficient reasons, the 10-day window condition may be waived and the 28-day threshold applied. ..." Based on the results of the present study, the maximum mean degradation rate of the test substance is %D = 87.9% at the plateau, after 28 days."

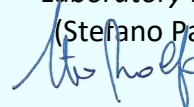
Therefore, the tested sample can be considered as:

**Rapidly biodegradable**

Responsabile Scientifico  
*Scientific Manager*  
(Dr. Roberto Zambonin)



Direttore del Laboratorio  
*Laboratory Manager*  
(Stefano Pandolfo)



## 8. BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHY

- OECD/OECD 301:1992 "Ready biodegradability" (Test F, Manometric Respirometry Test)
- ISO 15705:2002(E) "Water quality - Determination of the chemical oxygen demand index (ST-COD) - Small-scale sealed-tube method"

**Eurochem Ricerche S.r.l**

*Analisi, ricerca e sviluppo, consulenza*

Viale del Lavoro, 6 - 350365 Mestrino (PD)

ITALY - tel. +39 049 9002844

[info@eurochemricerche.it](mailto:info@eurochemricerche.it)

[www.eurochemricerche.it](http://www.eurochemricerche.it)